© Sociedad Española de Malacología

Un avance sobre la composición y microestructura de la concha de *Iberus gualtierianus* morfotipo *gualtierianus* (Linnaeus, 1758) (Gastropoda: Helicidae)

Notes on the composition and microstructure of the shell of *Iberus* gualtierianus morphotype gualtierianus (Linnaeus, 1758) (Gastropoda: Helicidae)

Rocío MÁRQUEZ*, José Ramón ARRÉBOLA** y Rafael DELGADO*

Recibido el 20-V-2004. Aceptado el 5-VII-2004

RESUMEN

Se ha estudiado la concha de *lberus gualtierianus* morfotipo *gualtierianus* (Linnaeus, 1758) desde el punto de vista de su composición mineralógica (difracción de rayos X), composición química (fluorescencia de rayos X, microanálisis de rayos X y calcimetría) y microestructura (microscopía electrónica de barrido, MEB). El mineral presente es aragonito (CaCO3) (sobre 99%), con trazas de calcita. Los principales elementos químicos detectados, aparte de Ca, C y O, son Si, Mg, Na y Sr, probablemente como sustituciones en la red cristalina y/o contaminaciones. Los contenidos de CaCO3 están entre 97% y 99%. La concha tiene un espesor de unos 300 µm, con microestructura en capas superpuestas. Dentro de cada una de ellas, el tipo de microestructura se califica como laminar cruzada simple, compuesta de láminas de tercer, segundo y primer orden y con orientaciones distintas de los cristales de aragonito. Rasgos microestructurales destacables son el distinto espesor de las capas, dependiendo de su situación bajo las costillas o estriaciones de la concha, y que el número de capas disminuye en la última media vuelta de espira. La mayoría de estos caracteres son comunes a otros moluscos y en especial a los gasterópodos terrestres, si bien hasta el presente no habían sido establecidos en *I. gualtierianus* morfotipo *gualtierianus*.

SUMMARY

The mineralogical composition of the shell of *Iberus gualtierianus* morphotype *gualtierianus* (Linnaeus, 1758) was studied (X-ray diffraction), as was the chemical composition (X-ray fluorescence, X-ray microanalysis and calcimetry) and the microstructure (scanning electron microscopy, SEM). The mineral present is aragonite (CaCO₃) (around 99%) with traces of calcite. The main chemical elements detected, apart from Ca, C and O, are Si, Mg, Na and Sr, probably substituting Ca in the crystalline structure and/or as impurities. The CaCO₃ contents are between 97% and 99%. Shell thickness is around 300 µm with superimposed layers. In each of these the microstructure is classified as simple crossed lamellar, composed of third, second and first order lamellae with differing orientation of the aragonite crystals. Noteworthy microstructural features are the different thicknesses of the layers, depending on their position below the ribs or striations of the shell and the fact that

^{*} Departamento de Edafología y Química Agrícola, Facultad de Farmacia, Universidad de Granada, Campus de Cartuja s/n, 18071, Granada, España.

^{**} Departamento de Fisiología y Zoología, Facultad de Biología, Universidad de Sevilla, Avda. Reina Mercedes, 6, 41012, Sevilla, España.

the number of layers decreases in the last half turn of the whorl. Most of these characteristics are common to other molluscs, especially to the terrestrial gastropods, although, until now, these had not been identified in *Iberus gualtierianus* morphotype *gualtierianus*.

PALABRAS CLAVE: *Iberus gualtierianus* morfotipo *gualtierianus*, concha, mineralogía, composición química, microestructura, MEB.

KEY WORDS: *Iberus gualtierianus* morphotype *gualtierianus*, shell, mineralogy, chemical composition, microstructure, SEM.

INTRODUCCIÓN

La mayoría de los moluscos se caracterizan por presentar una concha, verdadero esqueleto externo que ellos mismos segregan, que posee distintas funciones y que está compuesta en un 95-99% por carbonato, esencialmente cálcico (CaCO₃), y materia orgánica, que representa entre el 5% y el 0,1% restante (HARE Y ABELSON, 1965).

El carbonato cálcico de las conchas de los moluscos precipita como calcita o aragonito, siendo la última especie mineral el polimorfo más frecuente (LOWENSTAM Y WEINER, 1989). Aún así, algunos moluscos presentan simultáneamente los dos polimorfos en sus conchas, bien como constituyentes de una misma capa (MUTVEI, DAUPHIN Y CUIF, 1985), o bien localizados en capas diferenciadas (SABATIER, 1953; DAUPHIN, CUIF, MUTVEI Y DENIS, 1989; LOWENSTAM Y WEINER, 1989). Otras formas de CaCO3 han sido también reconocidas en la composición mineral de las conchas de los moluscos, pero nunca como constituyentes principales. Así por ejemplo, la vaterita ha sido identificada en zonas regeneradas de las conchas tras sufrir éstas algún daño estructural (WILBURG, 1964; TAYLOR, KENNEDY Y HALL, 1969; LOWENSTAM Y WEINER, 1989) o en los márgenes de las conchas recientemente mineralizados (LOWENSTAM Y WEINER, 1989; HASSE, EHRENBERG, MARXEN, BECKER Y EPPLE, 2000), aunque siempre en cantidades inferiores al 1,5%.

En la concha de los moluscos aparecen también ciertos elementos traza, cuyo contenido concreto puede dar información acerca de las condiciones ambientales y paleoambientales del medio en el que se produjo la precipitación del mineral. El análisis isotópico $(\delta^{18}O \ y \ \delta^{13}C)$ de las conchas ha aportado, igualmente, información de esa naturaleza (KRANTZ, WILLIAMS Y JONES, 1987).

La microestructura de la concha de los moluscos ha sido descrita y analizada por muchos autores (MACKAY, 1952; CARTER, 1980; MUTVEI ET AL., 1985; HE-DEGAARD, 1997; CHATEIGNER, HEDEGA-ARD Y WENK, 2000). BØGGILD (1930) realizó la primera clasificación de la microestructura mediante descripciones con microscopía de luz transmitida. Gracias a la introducción de la microscopía electrónica en estos estudios (GRÉGOIRE, DU-CHATEAU Y FLORKIN, 1949), y principalmente desde la utilización del microscopio electrónico de barrido (MEB) a finales de la década de los sesenta, la microestructura de las conchas se ha definido más a partir de su micromorfología que a partir de su mineralogía o cristalografía óptica. Esta situación ha hecho que las clasificaciones iniciales hayan sido redefinidas (KOBAYASHI, 1964, 1971; MACCLINTOCK, 1967; TAYLOR ET AL., 1969, TAYLOR, KENNEDY Y HALL, 1973; GRÉGOIRE, 1972), realizándose importantes revisiones de la nomenclatura descriptiva aplicada a la microestructura y ultraestructura (WILBUR Y SALEUDDIN, 1983; WATABE, 1984; LOWENSTAM Y WEI-NER, 1989). Cabe destacar, en este sentido, los trabajos de CARTER Y CLARK (1985) y CARTER (1990), en los que se integra la nomenclatura de la mineralogía y la microestructura de la mayoría de los grupos de invertebrados y vertebrados, con la intención de poder hacer comparaciones entre distintos organismos.

El estudio de la microestructura de la concha de los moluscos también se ha empleado para el análisis de los procesos y mecanismos que dan lugar a la precipitación del carbonato cálcico y su posterior organización ultraestructural (WATABE Y WILBUR, 1961; WISE Y HAY, 1968).

Entre las distintas aplicaciones que tiene el análisis de la microestructura de las conchas se encuentra su utilidad en estudios taxonómicos, filogenéticos y evolutivos (MACKAY, 1952; WISE, 1970; TAYLOR, 1973; POPOV Y BARSKOV, 1978; CARTER Y CLARK, 1985; SCHNEIDER Y CARTER, 2001).

En este trabajo se estudia la composición mineralógica y química y la microestructura de la concha de *Iberus gualtierianus* morfotipo *gualtierianus* (Linnaeus, 1758), una de las varias formas conquiliológicas conocidas en esta especie.

Iberus gualtierianus morfotipo gualtierianus es un endemismo andaluz conocido popularmente como "chapa", que vive en tres enclaves muy localizados: Sierra Elvira en la provincia de Granada, Sierra de Jaén en la de Jaén y Sierra de Gádor en la provincia de Almería. Habita en suelos xéricos, sobre calizas y dolomías con modelado de tipo kárstico y una vegetación correspondiente a etapas de regresión del bosque climácico. En este ambiente, es capaz de colonizar zonas semidesérticas con poco desarrollo de suelo y escasas precipitaciones anuales. Debido a las presiones de diversa índole que le afectan desde hace varias décadas, y en especial las relacionadas con su interés gastronómico (ARRÉBOLA, 2002), ha sido propuesta por la Sociedad Española de Malacología para su incorporación al Catálogo Nacional de Especies Amenazadas.

MATERIAL Y MÉTODOS

Cuatro conchas (A, B, C y D) de *Iberus gualtierianus* morfotipo *gualtierianus* fueron recogidas en Sierra Elvira (UTM: VG32), al noroeste de la ciudad de Granada.

La composición mineralógica de los cuatro ejemplares ha sido analizada mediante difracción de rayos X (XRD), con un difractómetro Rigaku-Miniflex Ca 2005, equipado con un filtro de Ni, sistema de discriminación de impulsos y contador de gases, según describe GÁMIZ (1987). La composición química de los ejemplares A y B se ha conocido mediante fluorescencia de rayos X (XRF) (SORIANO, 1994) y microanálisis de rayos X de energía dispersiva (EDR) (MÁRQUEZ, 2003). La primera técnica se ha realizado con un espectrómetro secuencial de longitud de onda dispersiva, equipado con un ánodo de Rh y un generador de rayos X de 4 kW de potencia, Philips Magix Pro (PW-2440). Por su parte, el análisis EDR se ha llevado a cabo con un espectrómetro de rayos X de energía dispersiva, Röntec, 288, M-Serie, EDWIN, acoplado a un equipo de MEB (se describirá posteriormente), que permite analizar muestras de superficie rugosa. Para este análisis las muestras fueron metalizadas con grafito. Finalmente, los ejemplares C y D han sido utilizados para analizar el contenido de carbonatos (CaCO3 equivalente) con el calcímetro de Bernard.

Para el análisis de la microestructura de la concha de I. gualtierianus morfotipo gualtierianus se han seleccionado, del ejemplar A, muestras de las zonas de crecimiento más reciente de las tres últimas medias vueltas de espira de la concha, ya que según LÓPEZ-ALCÁN-TARA, RIVAS, ALONSO E IBÁÑEZ (1983) cada media vuelta de espira se corresponde con un estadio de crecimiento del organismo. Se han observado fracturas frescas de la concha, que facilitan la observación de la microestructura en el MEB (HEDEGAARD, LINDBERG Y BANDEL, 1997), en secciones paralelas y perpendiculares a las líneas de crecimiento. Los fragmentos de concha fueron pegados directamente sobre el portamuestras de aluminio mediante pegamento de plata coloidal. Posteriormente fueron metalizados con grafito para facilitar la observación y permitir el análisis EDR. La observación se ha realizado en un microscopio electrónico de barrido Hitachi, modelo S-501 (voltaje de aceleración de 25 kV; imágenes de electrones

Tabla I. Análisis por fluorescencia de rayos X (XRF, ejemplares A y B) y calcimetría (calcímetro de Bernard, ejemplares C y D) de las conchas de *Iberus gualtierianus* morfotipo *gualtierianus*. *Table I. X-ray fluorescence analysis (XRF, specimens A and B) and carbonate content (Bernard's calcimeter, specimens C and D) of the shells of* Iberus gualtierianus *morphotype* gualtierianus.

		Resultados XRF Elementos mayores como óxidos (%) Elementos menores (ppm) LOI ^(a) Suma CaCO3															Calcimetría CaCO3 equiva-	
	Al203	Ca0	Fe ₂ O ₃	K20	Mg0	Na2O	P205	Si02	ſ	Sr	Zr	(%)	(%)	(%) ^(b)	(%) ^(c)	lente	(%) ^(d)	
Ej. A	0,05	55,72	0,06	0,07	0,12	0,08	0,02	0,25	70,9	624,7	10,5	43,13	99,50	99,40	98,0	Ej. C	Ej. D	
Ej. B	0,06	55,44	0,02	0,07	0,08	0,08	0,01	0,30	21,1	579,2	10,9	43,23	99,29	98,90	98,20	97,52	97,72	
(a) Pér (c) Calo	1) Pérdida de peso por calcinoción (1000 °C), (b) Colculado o portir de los porcentojes de CoO; % CoCO3 = % CoO x Pm CaCO3/Pm CoO c) Calculado o portir de los porcentojes de LOI; % CaCO3 = % LOI x Pm CaCO3/Pm CO2; (Pm, peso molecular); (d) Calcímetro de Bernord																	

secundarios) con el programa de digitalización de imágenes Scan Vision.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El análisis mineralógico pone de manifiesto que las conchas de *I. gualtierianus* morfotipo *gualtierianus* están compuestas, mayoritariamente, por aragonito (ejemplar A, 99,8%; ejemplar B, 99,4%; ejemplar C, 99,5% y ejemplar D, 98,7%), conteniendo cantidades traza de calcita (ejemplar A, 0,2%; ejemplar B, 0,6%; ejemplar C, 0,5%; ejemplar D, 1,3%).

El patrón de difracción de los diagramas corresponde al del aragonito en la carta JCPDS n° 5-453, con una pequeña reflexión a 0,303 nm correspondiente a la calcita (carta JCPDS n° 5-586) (JCPDS, 1974).

En este resultado, I. gualtierianus morfotipo gualtierianus se asemeja a la mayoría de los moluscos, cuya concha es aragonítica (LOWENSTAM Y WEINER, 1989). La presencia de pequeñas cantidades de calcita puede interpretarse de varios modos, tal como indican Balmain, Hannoyer y LÓPEZ (1999). Cabe la posibilidad de que esta especie mineral se concentre en determinadas partes de la concha, lo que no parece probable, ya que las proporciones en las que aparece son distintas entre los ejemplares, siendo éstos similares macromorfológicamente. Otra posibilidad es que se trate de una fase secundaria a la formación de la concha por un proceso de contaminación natural, dado que estos animales habitan ambientes carbonatados.

Por último, cabría el paso de un polimorfo a otro (de aragonito a calcita) generado por el calentamiento durante la molienda; este proceso tampoco parece muy probable dada la escasa velocidad de la reacción (CARLSON, 1983).

Los resultados del análisis XRF se muestran en la Tabla I. Se observa que entre los elementos mayores destaca por su abundancia el calcio, constituyendo, en óxidos, el 55,72% del ejemplar A y el 55,44% del ejemplar B. Las pérdidas por calcinación (LOI) son elevadas, superiores al 43%. Les siguen en proporción el silicio (en óxidos, 0,25% para el ejemplar A y 0,30% para el ejemplar B), mientras que el resto de los óxidos aparecen con valores inferiores al 0,1% (salvo el de magnesio en el ejemplar A, cuyo valor es 0,12%). De los elementos menores, el estroncio es el que presenta el porcentaje más alto en ambas conchas (624,7 ppm en el ejemplar A y 579,2 ppm en el ejemplar B).

Las proporciones de CaO son las esperadas dada la mineralogía aragonítica, y en menor medida calcítica (ambos polimorfos del CaCO₃), de la concha. Con estas proporciones de CaO, cabe calcular el contenido de CaCO3 presente, que resulta de 99,4% y 98,9% respectivamente para el ejemplar A y B (Tabla I). Lo mismo se podría decir de las altas pérdidas por calcinación que corresponderían al CO2 generado en la descomposición térmica de los carbonatos; en este caso el contenido de CaCO3 calculado a partir de ellas es de 98,0% y 98,2% respectivamente para el ejemplar A y B (Tabla I). El ajuste con las anteriores cifras es aceptable.



Figura 1. Espectros de microanálisis de rayos X (EDR) en fracturas frescas de conchas de *Iberus gualtierianus* morfotipo *gualtierianus*. Izquierda: ejemplar A; derecha: ejemplar B. *Figure 1. X-ray microanalysis spectra (EDR) in fresh fractures of the shells of* Iberus gualtierianus morphotype gualtierianus. *Left: specimen A; right: specimen B.*

Las proporciones de SiO₂ (0,25% en el ejemplar A y 0,30% en el ejemplar B) y Al₂O₃ (0,05% y 0,06% para el ejemplar A y B, respectivamente), son imputables a la contaminación de la concha por silicatos del suelo, tratándose de componentes secundarios.

A pesar de que el aragonito es un mineral bastante puro desde el punto de vista químico (DEER, HOWIE Y ZUSSMAN, 1992), el Sr presente en las conchas se incluiría en la red de este mineral sustituyendo al Ca, lo cual es un hecho ampliamente descrito en la bibliografía sobre aragonito biogénico (TUREKIAN Y ARMSTRONG, 1960; DODD, 1967; MASUDA, 1976; MASUDA E HIRANO, 1980). Lo mismo le ocurriría al Mg, pudiendo ser también, en parte, producto de contaminación de los materiales dolomíticos del suelo.

El Na es un catión que también puede estar presente en la red del aragonito, incluso en cantidades elevadas (DAUPHIN Y DENIS, 2000; DAUPHIN, GUZMAN, DENIS, CUIF, Y ORTLIEB, 2003), aunque su proporción es mayor en las conchas marinas (WADA Y FUJINUKI, 1974). Otros autores han considerado que la presencia del Na en las conchas de los moluscos, se debe a procesos de contaminación (por ejemplo, ESTES, 1972), o al hecho de ser un catión que forma parte de la composición química de la matriz orgánica de las conchas (LÉCUYER, 1996).

El análisis del contenido de carbonato cálcico equivalente de las conchas (Tabla I), registra los siguientes porcentajes: 97,52% para el ejemplar C y 97,72% para el ejemplar D. Estos resultados son de magnitudes similares a los obtenidos por análisis XRF ya expuestos (Tabla I). Se puede, por tanto, afirmar que los ejemplares de *I. gualtierianus* morfotipo *gualtierianus* analizados tienen un porcentaje de CaCO3 entre el 97% y el 99% y que se encuentra, de esta forma, dentro del rango de valores conocido para la concha de los moluscos (entre 95% y 99,9%); el resto son componentes orgánicos (HARE Y ABELSON, 1965).

El estudio de la composición se ha completado con los resultados de microanálisis de rayos X (EDR) (Fig. 1) de la superficie de las fracturas frescas de las conchas. Se ha demostrado la composición carbonática al aparecer las líneas correspondientes a los elementos carbono, oxígeno y calcio. Hay, pues, una perfecta coherencia con el resto de los resultados expuestos. Los elementos químicos detectados en XRF (Tabla I), distintos al carbono, oxígeno y calcio, no se registran con EDR, al encontrarse sus cantidades por debajo de los límites de detección de esta técnica.

El estudio de la concha en fractura fresca bajo el microscopio electrónico de barrido (MEB) ha puesto de manifiesto, en primer lugar, su constitución en capas superpuestas (Figs. 2A, B). Dichas capas presentan estructura laminar cruzada (se describirá posteriormente) y distintas orientaciones de los cristales de aragonito (Fig. 2B). Esta configuración interna de la

Iberus, 23 (1), 2005

Tabla II. Capas reconocidas, y espesores medios de las mismas (μ m), en una sección perpendicular (A) y en otra paralela (B) a las líneas de crecimiento de la concha estudiada del ejemplar A de *Iberus gualtierianus* morfotipo *gualtierianus*. Medidas realizadas en las observaciones con microscopio electrónico de barrido (MEB). La capa a es la más interna de la concha y la e la más externa. *Table II. Layers observed and their mean thicknesses (\mum), in both perpendicular (A) and parallel (B) sections to the growth lines of the studied shell of the specimen A of Iberus gualtierianus morphotype gualtierianus. The measurements were carried out using scanning electron microscopy (SEM). Layer a is the most internal and layer e the most external.*

A. Sección per	endicular	a las líne	eas	de crecimi	ento														
Capas Media vuelta	٥			b			C			d			е			\sum (espesor total)			
de espira	esp	ds	n	esp	ds	n	esp	ds	n	esp	ds	n	esp	ds	n	esp	ds	n	
Última	132,39	123,14	8	132,60	43,03	8	101,84	14,31	4							366,83	60,16	20	
Penúltima	101,14	15,17	8	55,00	16,22	8	61,47	7,48	8	30,46	9,57	8	55,91	18,93	8	303,98	13,47	40	
Antepenúltima	113,24	34,56	8	67,50	36,29	8	46,32	8,85	8	36,91	9,11	8	34,06	5,35	8	298,03	18,83	40	
B. Sección par	alela a las	: líneas de	e cre	ecimiento														_	
Capas	۵			b				С			d			е			\sum (espesor total)		
		u			U			ί			u			е) (esp	0201 1010		
Media vuelta		u			U			ι			u			е		∑ (esp			
Media vuelta de espira	esp	ds	n	esp	ds	n	esp	ds	n	esp	ds	n	esp	ds	n	esp	ds	n	
Media vuelta de espira Última	esp 250,97	ds 28,75	n 4	esp 53,13	ds 13,31	n 4	esp	ds	n	esp	ds	n	esp	ds	n	esp 304,10	ds 21,03	n 8	
Media vuelta de espira Última Penúltima	esp 250,97 77,91	ds 28,75 3,91	n 4 8	esp 53,13 55,57	ds 13,31 10,07	n 4 8	esp 66,56	ds 7,73	n 8	esp 52,47	ds 9,19	n 8	esp 42,35	ds 6,61	n 8	esp 304,10 294,86	ds 21,03 7,50	n 8 40	
Media vuelta de espira Última Penúltima Antepenúltima	esp 250,97 77,91 47,93	ds 28,75 3,91 13,04	n 4 8 8	esp 53,13 55,57 60,75	ds 13,31 10,07 8,94	n 4 8 8	esp 66,56 48,17	ds 7,73 12,38	n 8 8	esp 52,47 26,59	ds 9,19 5,04	n 8 8	esp 42,35 24,89	ds 6,61 7,52	n 8 8	esp 304,10 294,86 208,33	ds 21,03 7,50 9,38	n 8 40 40	

concha ha permitido establecer el número y espesor de las capas en las últimas fases del crecimiento del organismo (Tabla II). Destaca, como hecho observable, que el espesor de las capas, en general, varía dependiendo de la zona que se trate, aumentando bajo las costillas y decreciendo en las estriaciones (Fig. 2A) presentes en estas conchas (LÓPEZ-ALCÁNTARA, RIVAS, ALONSO E IBÁÑEZ, 1985). Además, cabe destacar que, en la mayoría de los casos, los espesores medidos tienen un cierto grado de espesores aparentes, ya que las secciones observadas son irregulares al ser fracturas frescas y no se disponen totalmente perpendiculares al plano del ob-

(Página derecha) Figura 2. Imágenes de microscopía electrónica de barrido de la concha de Iberus gualtierianus morfotipo gualtierianus. A: microestructura en corte fresco de una sección perpendicular a las líneas de crecimiento de la penúltima media vuelta de espira. Presencia de cinco capas con estructura laminar cruzada y orientaciones distintas. La flecha indica una costilla y el incremento de los espesores de las capas debajo de ella. B: detalle de la imagen anterior, demostrando las distintas orientaciones de los cristales en las capas contiguas (por ejemplo, a con b). C: microestructura en corte fresco de una sección paralela a las líneas de crecimiento de la penúltima media vuelta de espira. Se muestran las varillas de aragonito (lt) que componen el tercer orden de la estructura laminar cruzada, y los paquetes de varillas (ls) que constituyen el segundo orden de dicha estructura. D: microestructura en corte fresco de una sección paralela a las líneas de crecimiento de la última media vuelta de espira. Se muestran las unidades estructurales de primer orden de forma tabular (lp). Las flechas indican las dos distintas orientaciones de los cristales en las láminas de primer orden. E: superficie interna de la concha en la última media vuelta de espira. Se muestran, con flechas discontinuas, las ondulaciones (od) y estrías finas (est). La flecha continua señala hacia la abertura de la concha. F: superficie interna de la concha en la última media vuelta de espira. Se destacan con la flecha discontinua las pequeñas protuberancias (pb). La flecha continua señala hacia la abertura de la concha.

MÁRQUEZ ET AL.: Composición y microestructura de la concha de Iberus gualtierianus



Figure 2. Scanning electron micrographs of the shell of Iberus gualtierianus morphotype gualtierianus. A: microstructure in freshly cut section perpendicular to the growth lines of the penultimate half turn of the whorl. Presence of the five layers with crossed lamellar structure and different orientations. The arrow shows a rib and the increase in thickness of the layers below it. B: detail of A showing different orientations of the crystals in the contiguous layers (e. g. a with b). C: microstructure in freshly cut section parallel to the growth lines of the penultimate half turn of the whorl. The aragonite rods (lt) which constitute the third order of the crossed lamellar structure and the bundles of rods (ls) forming the second order of the structure can be seen. D: microstructure in freshly cut section parallel to the growth lines of the first order structural units (lp) can be seen. The arrows show the two different orientations of the crystals in the first order lamellae. E: internal surface of the shell in the last half turn of the whorl. The dotted arrows show the ondulations (od) and fine striations (est). The solid arrow points towards the shell aperture. F: internal surface of the shell in the last half turn of the shell aperture.

servador, a pesar de los esfuerzos realizados en el microscopio para que así sea. Por todo ello se aportan valores medios (Tabla II).

De estos datos se deduce, en primer lugar, que en la sección perpendicular a las líneas de crecimiento de la última media vuelta de espira (Tabla IIA) se reconocen tres capas (a, b y c), mientras que en la sección paralela a dichas líneas sólo se reconocen dos (Tabla IIB). Pensamos que esto pueda deberse a la orientación relativa de los cristales de aragonito en las láminas de las capas, de tal forma que, en la sección paralela, dos de ellas, las más internas, tienen una orientación similar y se confunden.

El número de capas aumenta hasta cinco en la penúltima y antepenúltima medias vueltas de espira en ambas secciones, lo que supone admitir que la concha va cambiando en su microestructura en el transcurso de las fases de desarrollo del animal.

Una cuestión interesante es el espesor de las capas, variable de unas a otras (entre 24,89 μ m y 250,97 μ m) (Tabla II). Por otra parte, el espesor total de la concha es de unos 300 μ m, tendiendo a incrementarse en la última media vuelta de espira respecto a las anteriores, lo que apuntaría no sólo a una reconstrucción en el número de capas ya referido, sino también a una pequeña reducción en el volumen de la concha en las medias vueltas de espira más internas.

Respecto a la microestructura en detalle de las capas, hay que decir que están constituidas por distintas unidades estructurales que crecen en complejidad y que se denominan, respectivamente, láminas de tercer, segundo y primer orden, como corresponde con su calificación de laminar cruzada (Bøggild, 1930; Uozumi, Iwata y Togo, 1972; CARTER, 1990). Las unidades más pequeñas o de tercer orden, tienen forma de varilla y un espesor medio de $0,49 \ \mu m$ (desviación típica, $0,14 \ \mu m; n$, 20) (Fig. 2C). Estas unidades son paralelas entre sí y están unidas generando pequeños paquetes (Fig. 2C) que constituyen las unidades estructurales intermedias o de segundo orden, con un

grosor medio de unos 5 μ m (4,91 μ m; desviación típica, 1,16 μ m; n, 6). A su vez, éstas están unidas entre sí dando lugar a las unidades estructurales mayores o de primer orden que presentan una forma plana o tabular (Fig. 2D).

De acuerdo con los caracteres descritos y según la terminología utilizada por CARTER (1990), esta microestructura podemos clasificarla como laminar cruzada simple ("simple crossed lamellar"). La microestructura de tipo laminar cruzada es la más extendida en las conchas de los moluscos (BØGGILD, 1930), estando constituida por aragonito salvo en algunas especies (UOZUMI ET AL., 1972). Una característica de esta microestructura (BØGGILD, 1930; CARTER, 1990) es que la orientación de las unidades aciculares de aragonito (láminas de tercer orden), así como los paquetes que componen (láminas de segundo orden), cambian de orientación entre las láminas de primer orden adyacentes (Fig. 2D).

Tanto la constitución en varias capas superpuestas, como la microestructura laminar cruzada, confieren a la concha de *I. gualtierianus* morfotipo *gualtierianus* una gran resistencia mecánica.

La superficie interna de la concha es prácticamente lisa (Fig. 2E), si bien en algunas zonas presenta suaves ondulaciones (Fig. 2E), que pueden incluso llegar a constituir pequeños montículos o protuberancias (Fig. 2F) y que parecen ser un reflejo suavizado de la ornamentación externa. También por zonas, la superficie interna de la concha está microesculpida con estriaciones muy finas (Fig. 2E).

AGRADECIMIENTOS

Al Centro de Instrumentación Científica (CIC) de la Universidad de Granada, en el que se ha realizado el análisis de fluorescencia de rayos X (XRF).

Al Servicio de Microscopía Electrónica de Barrido y Microanálisis de la Facultad de Farmacia (Universidad de Granada) por la preparación de las muestras, la realización de las fotografías y el estudio de microanálisis de rayos-X de energía dispersiva (EDR). MÁRQUEZ ET AL.: Composición y microestructura de la concha de Iberus gualtierianus

BIBLIOGRAFÍA

- ARRÉBOLA-BURGOS, J. R., 2002. Caracoles terrestres de Andalucía. Consejería de Medio Ambiente, Junta de Andalucía, Manuales de Conservación de la Naturaleza, nº 1, 64 pp.
- BALMAIN, J., HANNOYER, B. Y LÓPEZ, E., 1999. Fourier Transform Infrared Spectroscopy (FTIR) and X-Ray Diffraction Analyses of Mineral and Organic Matrix During Heating of Mother of Pearl (Nacre) from the Shell of the Mollusc Pinctada maxima. Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials, 48: 749-754.
- BØGGILD, O. B., 1930. The shell structure of the mollusk. Det Kongelige Danske Videnskabernes Selskabs Skrifter Naturvidenskabelig og Mathematisk Afdeling, ser. 9, 2: 231-326.
- CARLSON, W. D., 1983. The polimorphs of CaCO3 and the aragonite-calcite transformation. En: Reeder, R. J. (Ed.), *Reviews in Mineralogy, Vol. 11: Carbonates: Mineralogy and Chemistry*. Mineralogical Society of America, Washington, D. C., pp. 191-225.
- CARTER, J. G. Y CLARK II, G. R., 1985. Classification and phylogenetic significance of molluscan shell microstructure. En: Bottjer, D. J., Hickman, C. S., Ward, P. D., Broadhead, T. W. (Eds.), *Mollusks: notes for a short course*. University of Tennessee, Department of Geological Sciences Studies in Geology, pp. 50-71.
- CARTER, J. G., 1980. Guide to bivalve shell microstructures. En: Rhoads, D. C., Lutz, R. A. (Eds.), Skeletal Growth of Aquatic Organisms. Plenum, New York, pp. 645-673.
- CARTER, J. G., 1990. Skeletal Biomineralization: Patterns, Processes and Evolutionary Trends Vol. I. Van Nostrand Reinhold, New York, 823 pp.
- CHATEIGNER, D., HEDEGAARD, C. Y WENK, H. R., 2000. Mollusc shell microstructures and crystallographic textures. *Journal of Structural Geology*, 22: 1723-1735.
- DAUPHIN, Y. Y DENIS, A., 2000. Structure and composition of the aragonitic crossed lamellar layers in six species of Bivalvia and Gastropoda. *Comparative Biochemistry and Physiology, Part A*, 126: 367-377.
- DAUPHIN, Y., CUIF, J. P., MUTVEI, H. Y DENIS, A., 1989. Mineralogy, chemistry and ultrastructure of the external shell-layer in ten species of *Haliotis tuberculata* (Mollusca: Archaeogastropoda). *Bulletin of the Geological Institutions of the University of Uppsala*, 15: 7-38.
- DAUPHIN, Y., GUZMAN, N., DENIS, A., CUIF, J. P. Y ORTLIEB, L., 2003. Microstructure, nanostructure and composition of the shell of *Concholepas concholepas* (Gastropoda, Muricidae). *Aquatic Living Resources*, 16: 95-103.

- DEER, W. A., HOWIE, R. A. Y ZUSSMAN, J., 1992. An Introduction to the Rock-Forming Minerals. Longmans Scientific & Technical, England, 696 pp.
- DODD, J. R., 1967. Manganesium and strontium in calcareous skeletons. A review. *Journal of Paleontology*, 41: 1313-1329.
- ESTES, E. L. III, 1972. *Diagenetic alteration of* Mercenaria mercenaria *as determined by laser microprobe analysis*. Thesis, University of North Carolina, Chapel Hill.
- GÁMIZ, E., 1987. Caracterización de caolines, talcos y bentonitas españoles para su posible aplicación en Farmacia. Tesis Doctoral, Universidad de Granada, 418 pp.
- GRÉGOIRE, C., DUCHATEAU, G. Y FLORKIN, M., 1949. Exame au microscope électronique de la pellicule prénacrée et de la nacre décalcifiée de l'anodonte. Archives Internationales de Physiologie, 57: 121-124.
- GRÉGOIRE, C., 1972. Structure of the molluscan shell. En: Florkin, M. & Scheer, B. T. (Eds.), *Chemical zoology, vol. VII (Mollusca)*. Academic Press, New York, London, pp. 45-102.
- HARE, P. E. Y ABELSON, P. H., 1965. Amino acid composition of some calcified proteins. *Carnegie Institution Washington Yearbook*, 64: 223-232.
- HASSE, B., EHRENBERG, H., MARXEN, J. C., BEC-KER, W. Y EPPLE, M., 2000. Calcium carbonate modifications in the mineralized shell of the freshwater snail *Biomphalaria glabrata*. *Chemistry-A European Journal*, 6 (20): 3679-3685.
- HEDEGAARD, C., LINDBERG, D. R. Y BANDEL, K., 1997. Shell microstructure of a Triassic patellogastropod limpet. *Lethaia*, 30: 331-335.
- HEDEGAARD, C., 1997. Shell structure of the recent Vetigastropoda. *Journal of Molluscan Studies*, 63: 369-377.
- (JCPDS) JOINT COMMITTEE ON POWDER DIF-FRACTION STANDARDS AND AMERICAN SO-CIETY FOR TESTING AND MATERIALS, 1974. Selected Powder diffraction data for minerals. JCPDS, Park Lane, Swarthmore, PA.
- KOBAYASHI, I., 1964. Introduction to the shell structure of bivalvian molluscs. *Chikyù Kagaku*, 73: 1-12.
- KOBAYASHI, I., 1971. Internal shell microstructure of recent bivalvian molluscs. Science Report of Niigata University, Series E (Geology and mineralogy), 2: 27-50.
- KRANTZ D. E., WILLIAMS, D. F. Y JONES, D. S., 1987. Ecological and paleoenvironmental information using stable isotope profiles from living and fossil mollusks. *Palaeogeography*, *Palaeoclimatology*, *Palaeoecology*, 58: 249-266.
- LÉCUYER, C., 1996. Effects of heating on the geochemistry of biogenic carbonates. *Clumical Geology*, 129 (3-4): 173-183.

- LÓPEZ-ALCÁNTARA, A., RIVAS, P., ALONSO, M. R. E IBÁÑEZ, M., 1983. Origen de *lberus gualtierianus*. Modelo evolutivo. *Haliotis*, 13: 145-154.
- LÓPEZ-ALCÁNTARA, A., RIVAS, P., ALONSO, M. R. E IBÁÑEZ, M., 1985. Variabilidad de *Iberus* gualtierianus (Linnaeus, 1758) (Pulmonata, Helicidae). *Iberus*, 5: 83-112.
- LOWENSTAM, H. A. Y WEINER, S., 1989. On Biomineralization. Oxford University Press, New York, 324 pp.
- MACCLINTOCK, C., 1967. Shell structure of patelloid and bellerophontoid gastropods (Mollusca). Bulletin of the Peabody Museum of Natural History, 22: 1-140.
- MACKAY, I. H., 1952. The shell structure of the modern mollusks. *Quarterly of the Colorado School of Mines*, 47: 1-27.
- MÁRQUEZ, R., 2003. El cuarzo de la fracción arena fina en suelos de la provincia de Granada. Memoria de Investigación Tutelada, Universidad de Granada, 178 pp.
- MASUDA, F. E HIRANO, M., 1980. Chemical composition of some modern marine pelecypod shells. *Science Reports Institute of Geoscience University of Tsukuba, Section B*, 1: 163-177.
- MASUDA, F, 1976. Strontium contents in shell of Glycymeris. Journal of the Geological Society of Japan, 82: 565-572.
- MUTVEI, H., DAUPHIN, Y. Y CUIF, J. P., 1985. Observations sur l'organisation de la couche externe du test des Haliotis (Gastropoda): un cas exceptionnel de variabilité mineralogique et microstructurale. *Bulletin du Muséum National d'Histoire Naturelle, Paris*, 4 Sér., sect. A., 7: 73-91.
- POPOV, S. V. Y BARSKOV, I. S., 1978. Shell structure of mollusks and its value in phylogeny and classification. *Malacological Review*, 11: 152-153.
- SABATIER, G., 1953. Application de la diffraction des rayon X à l'étude des coquilles de Mollusques. *Cahiers des naturalistes, Bulletin des Naturalistes Parisiens, nouvelle série,* 8: 97-102.
- SCHNEIDER, J. A. Y CARTER, J. G., 2001. Evolution and phylogenetic significance of Cardioidean shell microstructure (Mollusca, Bivalvia). *Journal of Paleontology*, 75: 607-643.
- SORIANO, M., 1994. Estudio geofarmacéutico de polvos de talco. Primera aproximación a la farmacopea internacional armonizada. Tesis Doctoral, Universidad de Granada, 619 pp.
- TAYLOR, J. D., KENNEDY, W. J. Y HALL, A., 1969. The shell structure and mineralogy of the Bivalvia. Introduction. Nuculacea-Trigonacea. Bulletin of the British Museum of Natural History (Zoology), Supplement, 3: 1-125.

- TAYLOR, J. D., KENNEDY, W. J. Y HALL, A., 1973. The shell structure and mineralogy of the Bivalvia. II. Lucinacea-Clavagellacea. Conclusions. Bulletin of the British Museum of Natural History (Zoology), Supplement, 22 (9): 253-294.
- TAYLOR, J. D., 1973. The structural evolution of the bivalve shell. *Palaeontology*, 16: 519-534.
- TUREKIAN, K. K. Y ARMSTRONG, R. L., 1960. Magnesium, strontium and barium concentrations and calcite-aragonite ratios of some recent molluscan shells. *Journal of Marine Research*, 18: 133-151.
- UOZUMI, S., IWATA, K. Y TOGO, Y., 1972. The ultrastructure of the mineral in and the construction of the crossed-lamellar layer in molluscan shell. *Contributions from the Department* of Geology and Mineralogy, Faculty of Science, Hokkaido University, 1236: 447-477.
- WADA, K. Y FUJINUKI, T., 1974. Physiological regulation of shell formation in molluscs. I. Chemical composition of extrapallial fluid. Bulletin of the National Pearl Research Laboratory, 18: 2085-2110.
- WATABE, N. Y WILBURG, K. M., 1961. Studies on shell formation. IX An Electron Microscope Study of Crystal Layer Formation in the Oyster. *The Journal of Biophysical and Biochemical Cytology*, 9: 761-777.
- WATABE, N., 1984. Mollusca: Shell. En: Bereiter-Hahn, J., Matolsty, K. & Richards, S. K. (Eds.), *Biology of the integument, vol. I (Invertebrates).* Springer-Verlag, New York, pp. 448-485.
- WILBUR, K. M., 1964. Shell formation and regeneration. En: Wilbur, K. M. y Yonge, C. M. (Eds.), *Physiology of Mollusca*. Academic Press, London, pp. 243-282.
- WILBUR, K. M. Y SALEUDDIN, A. S. M., 1983. Shell formation. En: Saleuddin, A. S. M. & Wilbur, K. M. (Eds.), *The Mollusca, Vol. 4, Part 1.* Academic Press, New York, 523 pp.
- WISE, S. W. JR. Y HAY, W. W., 1968. Scanning Electron Microscopy of molluscan shell ultrastructures II. Observations of growth surfaces. *Transactions of the American Microscopical Society*, 87: 419-430.
- WISE, S. W. JR., 1970. Microarchitecture and mode of formation of nacre (mother-of-pearl) in Pelecypods, Gastropods and Cephalopods. *Eclogae Geologicae Helvetiae*, 63: 775-797.